

氏名	エリー ケスマワティ ELLY KESUMAWATI
学位(専攻分野)	博士(農学)
学位記番号	農博第1589号
学位授与の日付	平成18年11月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科・専攻	農学研究科農学専攻
学位論文題目	Flower greening in <i>Hydrangea macrophylla</i> infected by the Japanese hydrangea phyllody (JHP) phytoplasma (Japanese hydrangea phyllody (JHP) ファイトプラズマによって引き起こされるアジサイの緑花化)
論文調査委員	(主査) 教授 矢澤 進 教授 米森 敬三 教授 二井 一 禎

### 論文内容の要旨

近年、様々な園芸作物において花冠が緑色となる葉化病といわれる病気が報告され、その病原体としてファイトプラズマが同定されている。本論文は、アジサイ品種の緑花発現にファイトプラズマが関与することを分子生物学的手法を含めた種々の方法により証明したものである。結果は、以下のように要約される。

1. 緑色の花房を持つ3品種を含む17のアジサイ品種を用いて、既存の方法を参考にしたPCRによってファイトプラズマの感染の有無を調査した。一つの品種(‘ミドリバナアジサイ’)からファイトプラズマの感染が確認され、他の二つの緑花品種からはファイトプラズマは検出されなかった。そこで、ファイトプラズマの感染を確認した‘ミドリバナアジサイ’個体を挿し木で繁殖し、翌年開花した花房を調査したところ、24%の挿し木個体は花房の緑色化が部分的に、あるいは全く起こらなかった。これら個体の花房を構成する小花を、アジサイの装飾花の萼片が緑色になったもの、緑色化しなかったもの(非緑色)、緑色部と非緑色部の混在したものに分け、それぞれの萼片から抽出したDNAをテンプレートとして半定量PCRを行ったところ、緑色の萼片では緑色部と非緑色部の混在した萼片の16倍以上の濃度のファイトプラズマが存在することを明らかにした。さらに、‘ミドリバナアジサイ’から葉原基1対を含む茎頂を摘出し、抗生物質を含む培地で継代培養を繰り返すことによってファイトプラズマフリー個体を作成すると、開花する花房はすべて非緑色であった。以上の結果から、市販のアジサイの緑花品種の中にはファイトプラズマによって緑花化するものが混在しており、このような品種の緑花化の不安定化機構には、生体内のファイトプラズマの濃度が関与することが示された。

2. ‘ミドリバナアジサイ’の花房が他の植物体の陰で発達した場合には緑色になることを見だし、植物体を育成する光強度条件に着目して実験を行った。緑花化の定量は画像解析によって行った。寒冷紗の枚数を変えることで植物体に照射される光強度を段階的に変えたところ、弱光条件ほど花房の緑色化は顕著であった。緑色化程度の異なる萼片から抽出したDNAをテンプレートとしてPCRを行ったところ、緑色あるいは緑色部と非緑色部の混在した萼片からはファイトプラズマが検出されたが、非緑色の萼片からはファイトプラズマが検出されなかった。以上のことから、光強度は‘ミドリバナアジサイ’の生体内ファイトプラズマ濃度に影響し、緑花発生を不安定化するものと考えられた。

3. アジサイには海岸性の強光適応型品種と山地性の弱光適応型品種が存在するが、‘ミドリバナアジサイ’は後者に属する品種である。これら各タイプに属する品種のアジサイをそれぞれ数品種ずつ用いて‘ミドリバナアジサイ’に接ぎ木することでファイトプラズマに感染させた。植物体の栽培はファイトプラズマ濃度が上がりにくい強光条件下で行った。強光適応型品種では、強光下にもかかわらず、花房を構成する多くの花が緑色となったが、弱光適応型品種の花房においては多くの花が非緑色であった。また、いずれの品種も緑色花からは多量のファイトプラズマが検出されたが、非緑色花からはほとんどファイトプラズマが検出されなかった。以上のことから、ファイトプラズマ感染個体を強光下で栽培した場合、生体内ファイトプラズマ濃度は品種によって異なり、弱光適応型品種では濃度が低くなることが明らかになった。これは、ファイトプラズマ濃度が植物体のストレス状態によって低下し、花が非緑色となることを示すものである。

4. ‘ミドリバナアジサイ’をはじめとしたファイトプラズマ感染植物の萼片の連続切片を観察したところ、緑花化した萼片では、非感染植物の萼片に見られる釣り鐘状の表皮細胞は認められず、平坦な表皮細胞が観察された。さらに、表皮細胞の直下には葉緑体を含む柵状細胞が観察された。これらの組織学的特徴は葉に特有のものである。また、葉緑体を植物体の一部で欠損した変異体にファイトプラズマを感染させ、萼片の内部形態を観察したところ、葉緑体の有無にかかわらず萼片には平坦な表皮細胞と柵状細胞が認められた。これらのことは、花器官の葉化はファイトプラズマの感染による葉緑体の発生によって引き起こされるものではないことが示された。

以上の結果より、今後植物の花冠の形態の多様化を考える上で、内生微生物の影響を十分考慮に入れる必要性が明らかとなった。

### 論文審査の結果の要旨

緑色花房を持つアジサイ品種の中に緑花の出現頻度が不安定で、時に緑色にならない側枝を発生する品種がある。一方、緑花品種を台木として緑色化しない（非緑色）品種を接ぎ木すると、翌年開花する非緑色花品種の花房が緑色化する。近年様々な園芸作物において花冠が緑色となる葉化病と呼ばれる病気が報告され、その病原体としてファイトプラズマが同定されている。本論文は、アジサイの緑花の発現にファイトプラズマが関与していることを明らかにしたものであり、成果として評価すべき点は以下のとおりである。

1. 緑花品種の一つであり、緑花発現が不安定な品種である‘ミドリバナアジサイ’がファイトプラズマに感染していることを明らかにした。

2. 半定量 PCR 法によって、‘ミドリバナアジサイ’の挿し木増殖個体に見られる花房の緑色化程度は、ファイトプラズマの生体内濃度の違いによることを明らかにした。

3. ‘ミドリバナアジサイ’の茎頂を外植体として抗生物質を含む培地で継代培養を繰り返すことによって作出したファイトプラズマフリー個体の花房はすべて非緑色となることを認めた。

4. アジサイの生体内のファイトプラズマ濃度は強光をはじめとした植物体へのストレスを与えることによって低下し、緑花の発生を抑制することが示された。

5. 海岸性の強光適応型品種と山地性の弱光適応型品種のアジサイをそれぞれ数品種ずつ用いて‘ミドリバナアジサイ’に接ぎ木することでファイトプラズマに感染させた。植物体の栽培はファイトプラズマ濃度が上がりにくい強光条件下で行った。その結果、強光適応型品種では強光下にもかかわらず、花房を構成する多くの小花が緑色となったが、弱光適応型品種の花房においては多くの小花が非緑色であった。またいずれの品種も、緑色花からはファイトプラズマが検出されたが、非緑色花からはほとんどファイトプラズマが検出されなかった。これらの結果から、ファイトプラズマ感染個体を強光下で栽培した場合、ファイトプラズマ濃度は品種によって異なり、弱光適応型品種ではその濃度が低くなることを明らかにした。

6. 連続切片の観察からファイトプラズマによる緑花化は花器官の葉化によることを明らかにし、この花器官の葉化はファイトプラズマの感染による葉緑体の発生を介して起こるのではないことを明らかにした。

以上のように本論文は、アジサイにおける花房の緑花化がファイトプラズマの感染によること、また緑色化の程度は生体内のファイトプラズマ濃度によることを明らかにするなど、花色変化と微生物のかかわりについて新しい知見を提供したものであり、園芸学並びに花卉の実際栽培に寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成 18 年 10 月 20 日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。